



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CAMPUS II
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

VITAL HENRIQUE DE LIRA SILVA

**AVALIAÇÃO DA DINÂMICA FOLICULAR E MICROBIOTA VAGINAL DE
ACORDO COM A FASE DO CICLO ESTRAL EM ÉGUAS**

**Areia-PB
Outubro de 2019**

VITAL HENRIQUE DE LIRA SILVA

**AVALIAÇÃO DA DINÂMICA FOLICULAR E MICROBIOTA VAGINAL
DE ACORDO COM A FASE DO CICLO ESTRAL EM ÉGUAS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
como requisito parcial à obtenção do título de
bacharel em medicina veterinária pela
universidade federal da paraíba.

Orientador (a): prof^a. Dr^a. Norma Lúcia de
Souza Araújo

**Areia
2019**

Catálogo na publicação

Seção de catalogação e classificação

S586a Silva, Vital Henrique de Lira.

Avaliação da dinâmica folicular e microbiota vaginal de acordo com a fase do ciclo estral em éguas / Vital Henrique de Lira Silva. - Areia, 2019. 31 f. : il.

Orientação: Norma Lúcia de Souza Araújo
Araújo, Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Bactéria. 2. Égua. 3. Folículo.
4. Vagina. I. Araújo, Norma Lúcia de Souza
Araújo. Título.

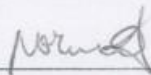
UFPB/CCA-AREIA

VITAL HENRIQUE DE LIRA SILVA

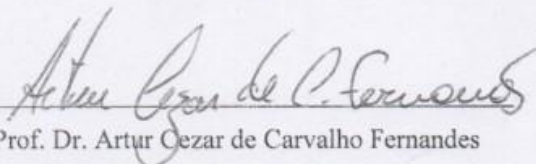
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como
requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em
Medicina Veterinária pela Universidade Federal da
Paraíba.

provado em: 21/10/2019.

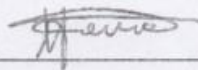
BANCA EXAMINADORA



Profª. Drª. Norma Lúcia de Souza Araújo
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Prof. Dr. Artur Cezar de Carvalho Fernandes
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



MSc. Marquiliano Farias Moura
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Expedito Rodrigues de Medeiros
Chefe da SIAG - CCA/UFPB
Mat. SIAPE: 2326003

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela minha vida, corpo e mente saudáveis.

A minha mãe, Maria Aparecida de Lira e meu pai Manoel Vital da Silva por todo amor, cuidado e orientação durante toda minha vida, torcendo e compartilhando sempre minhas conquistas. Que tornaram possível essa experiência incrível de “sair de casa e trilhar os próprios passos” para poder seguir uma profissão que sempre foi um sonho pra mim.

A minha avó Anália Ana da Silva que me ensinou a trabalhar e a lutar pelos meus objetivos com garra e determinação, a minha avó Marina Maria de Lira que me mostrou o lado mais doce dessa vida com toda sua bondade, aos meus avôs Vital Ursulino da Silva e José Pereira de Lira que em outro plano espiritual acompanham meus passos e me protegem de qualquer mal e a toda minha família que mesmo distante fisicamente esta presente em pensamentos positivos e orações.

A professora Norma Lúcia de Souza Araújo que aceitou o convite de me orientar neste trabalho de conclusão de curso, que dedicou seu tempo, paciência e cuidado em todos os momentos necessários. Irei lembrar sempre dos seus ensinamentos, de sua benevolência, calma, da paz que a mesma transmite e da amizade que criamos.

A professora Natália Matos de Souza Azevedo e ao seu marido Marlon de Souza Azevedo por toda confiança, pela honra de poder aprender e de tê-los como amigos e mentores.

A minha namorada Eloyza Gomes por me proporcionar carinho, afeto e que se fazer presente na minha vida, assim como se fez presente neste trabalho me dando apoio, incentivo, muito amor e me fazendo levar a vida mais a sério. A sua família que sempre me tratou com muito carinho e me acolheu como um filho.

Aos meus amigos, que foram mais do que colegas de sala, me acolheram como família e estiveram comigo em todos os momentos durante a graduação, desde os estudos, provas, seminários, tcc, estresses, momentos de tristeza e saudade de casa, como também nas alegrias, comemorações, estágios, congressos e viagens. Agradeço também aos demais

amigos que se fizeram presentes e importantes em diversas ocasiões nesses cinco anos de curso.

A todos os professores que fizeram parte do meu processo de formação, que com seus ensinamentos contribuíram na minha construção profissional e pessoal.

A todos os locais onde estagiei que colaboraram para minha formação, a toda a equipe que compõe o Hospital Veterinário, Hospital de Cavalos CITEQUIN e a Clínica Equestre pelo apoio, amizade e ensinamentos.

Aos animais que estão comigo e os que já me deixaram pois foram eles que me fizeram chegar até aqui e descobrir o quão linda é essa profissão.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Animais utilizados na avaliação da dinâmica folicular e microbiota vaginal de acordo com a fase do ciclo estral.....	20
Figura 2- Aparelho de ultrassom Mindray DP-4900 vet.....	21
Figura 3: Representação das fases do ciclo estral bem como os dias de coleta de material biológico para as mesmas.....	22
Figura 4- Swab estéril em meio de transporte Stuart(A), Placa de Petri com meio Ágar sangue (B).....	22
Figura 5- Folículo pré ovulatório 36,4mm (A), três folículos e um CL(B).....	26
Figura 6- Diâmetro (mm) do folículo dominante e segundo maior folículo nas éguas 1, 2, 3 e 4, respectivamente.....	27
Figura 7- Prevalência de microrganismos na vagina de éguas nas diferentes fases do ciclo estral.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Diâmetro (mm) do folículo dominante e segundo maior folículo nos ovários esquerdo (OE) e direito (OD) de éguas.....22

Tabela 2- Quantidade de folículos e presença de corpo lúteo nos ovários esquerdo (OE) e direito (OD) de éguas.....26

Tabela 3- Relação entre as fases do ciclo estral e incidência bacteriana vaginal.....28

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1-Certidão de Aprovação (CEUA).....	33
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

%: Porcentagem

CCA: Centro de Ciências Agrárias

CEUA: Comissão de Ética para Uso de Animais

CL: Corpo lúteo

E2: Estrógeno

FSH: Hormônio folículo estimulante

GNRH: Hormônio liberador de gonadotrofina

IA: Inseminação artificial

LH: Hormônio luteinizante

MHz: Megahertz

MM: Milímetros

Ng: Nano grama

OD: Ovário direito

OE: Ovário esquerdo

P4: Progesterona

PGF2 α : Prostaglandina

UFPB: Universidade Federal da Paraíba

US: Ultrassom

US: Ultrassom

Sumário

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.2 Regulação hormonal do ciclo estral na égua.....	15
2.3 Ciclo estral.....	16
2.4 Microrganismos colonizadores do trato reprodutivo	17
2.5 Mecanismos de defesa uterina na égua.....	18
2.6 Dinâmicas Foliculares	19
3 MATERIAIS E METODOS.....	20
3.1 Local do experimento e animais utilizados	2020
3.2 Metodologia.....	20
3.3 Coleta de amostras e cultura microbiológica	211
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	233
5 CONCLUSÃO.....	30
6 REFERÊNCIAS.....	31
7 ANEXOS.....	33

Resumo

A espécie equina possui características próprias fazendo-se necessários conhecimentos apurados e específicos quanto aos acontecimentos que envolvem a ovulação, para que se possa estabelecer um manejo reprodutivo adequado a esta espécie. O objetivo do presente estudo consiste em avaliar a dinâmica folicular ovariana e classificar os graus de edema uterino, bem como avaliar a microbiota vaginal de éguas em diferentes fases do ciclo estral. Objetivou-se observar diferenças populacionais entre os microrganismos que colonizam a vagina nas respectivas fases do ciclo estral. Para tanto, foram realizados exames ultrassonográficos diários do útero e ovários. Nos ovários, os folículos foram identificados, contados e mensurados diariamente como meio de acompanhamento da sua dinâmica de crescimento e realizou-se a colheita de material biológico de cada animal, em momentos específicos das diferentes fases. Assim, foi possível acompanhar a dinâmica folicular, correlacionar o crescimento populacional de microrganismos com as diferentes fases e o perfil hormonal que rege cada fase do ciclo estral na égua.

Palavras-Chave: Bactéria, Égua, Folículo, Vagina.

Abstract

The equine species has its own characteristics, requiring accurate and specific knowledge regarding the events that involve ovulation, so that an appropriate reproductive management for this species can be established. The aim of the present study is to evaluate the ovarian follicular dynamics and to classify the degrees of uterine edema, as well as to evaluate the vaginal microbiota of mares in different phases of the estrous cycle. The objective was to observe population differences between the microorganisms that colonize the vagina in the respective estrous cycle phases. For this, daily ultrasound examinations of the uterus and ovaries were performed. In the ovaries, follicles were identified, counted and measured daily as a means of monitoring their growth dynamics and biological material was collected from each animal at specific times of the different phases. Thus, it was possible to follow the follicular dynamics, correlate the population growth of microorganisms with the different phases and the hormonal profile that governs each phase of the estrous cycle in the mare.

Keywords: Bacterium, Mare, Follicle, Vagina

1 INTRODUÇÃO

O aumento da tecnificação na criação de Equinos no Brasil segue uma linha de exigências instituída pelos criadores, que demanda o progresso genético desses animais, progresso este que está ligado ao desempenho reprodutivo, morfológico e atlético. Essa evolução se fez possível pela seleção criteriosa de exemplares das diferentes raças e também na melhoria de estratégias de manejo adequadas a técnicas de reprodução assistida que visam melhorar o desempenho reprodutivo das fêmeas destinadas à reprodução.

O conhecimento da fisiologia reprodutiva da espécie equina possibilita a correta manipulação do ciclo estral e, conseqüentemente, a aplicação de biotecnologias reprodutivas, as quais são fundamentais para a multiplicação de animais geneticamente superiores. O entendimento desses mecanismos tornou-se possível com a utilização da ultrassonografia, que permitiu a visualização da dinâmica folicular, o processo da ovulação, desenvolvimento, manutenção e regressão do corpo lúteo, durante o ciclo estral na fêmea facilitando o monitoramento reprodutivo na estação reprodutiva com a utilização de monta natural ou inseminação artificial.

Também, durante a monta natural ou Inseminação Artificial (IA), algumas bactérias da flora vaginal normal podem ser transferidas para o interior do útero, podendo ser esta a causa principal de infecções uterinas que têm sido reconhecidas como a principal causa de baixa fertilidade em éguas. Na égua o ambiente uterino saudável não apresenta microflora, diferente da vagina onde se sabe existir uma flora vaginal rica em microrganismos não patogênicos. Muitas bactérias e leveduras da flora vaginal normal podem ser deslocadas para o interior do útero, podendo ser esta a causa principal de endometrites em éguas (CHAVES, 2011).

Com base nesses aspectos, o objetivo do presente trabalho consiste em avaliar a dinâmica folicular ovariana, classificar os graus de edema uterino, bem como, avaliar a microbiota vaginal em éguas, em diferentes fases do ciclo estral, com o objetivo de identificar se há diferenças, de acordo com a fase do ciclo estral, entre os microrganismos que colonizam a vagina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.2 Regulação hormonal do ciclo estral na égua

A égua é um animal poliéstrico estacional, com duração do ciclo de 20 a 21 dias. Sua atividade reprodutiva é regulada, principalmente, pela quantidade de luz, mas também, por fatores nutricionais e climáticos (SAMPER, 2008). A duração do período de luminosidade dos dias é inversamente proporcional à produção de melatonina, que controla a atividade do eixo hipotalâmico – hipofisário – gonadal. A melatonina inibe a produção do hormônio libertador de gonadotrofina (GnRH), que estimula a produção de dois hormônios que atuam nos ovários: hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH) (FERREIRA, 2009).

O hormônio FSH possui a função de promover o crescimento dos folículos e controlar a síntese de estrógenos, atuando na granulosa. O LH participa da síntese de estrogênios, possui como função primária estimulação, maturação e evolução do folículo antral e secundariamente, formação e manutenção do corpo lúteo (CL) (FERREIRA, 2009). Durante o ciclo ocorre dois picos de FSH, o primeiro próximo ao final do estro associado com a maturação final e ovulação do folículo e outro no diestro, entre os dias 8 a 12 (EVANS e IRVINE, 1975).

No estro, a concentração de LH aumenta até atingir o pico próximo à ovulação. Posteriormente à ovulação, é comum a ruptura de vasos e acúmulo de sangue no folículo ovulado e assim passa a se chamar de corpo hemorrágico. Esta estrutura começa a produzir progesterona (P4), ao atingir 1 a 2 ng/ml inicia-se o diestro e o comportamento de cio cessa (NEELY et al., 1983). Os níveis de P4 aumentam em 24 – 48 horas no período pós-ovulação e mantêm-se durante 14 – 15 dias do ciclo estral. Nas éguas não fertilizadas, e em um ciclo estral normal, a prostaglandina aumenta entre os dias 14 e 17 na circulação após a ovulação. Com o aparecimento do PGF2 α inicia-se a luteólise e uma diminuição na concentração de progesterona circulante (NEELY et al., 1983).

A diminuição da concentração de progesterona no final do diestro, leva ao aumento dos níveis circulantes de FSH e LH necessárias para ovulação do ciclo seguinte (BOTELHO, 2012). O aumento da produção de estradiol pelo folículo dominante, no ciclo consecutivo, permite que a égua volte a entrar em cio 1 a 3 dias após a luteólise (EVANS et al., 1997).

2.3 Ciclo Estral

O ciclo estral é definido como a sequência de alterações anatômicos e endócrinos que preparam a fêmea para a ovulação (SAMPER, 2008; FERREIRA, 2009). Na égua, o ciclo estral pode ser dividido em estro (fase folicular) e diestro (fase luteal). A fase folicular dura em média sete dias e a fase luteal em média 15 dias. Durante o estro a égua é sexualmente receptiva ao garanhão. Neste período, o folículo dominante se desenvolve e secreta estrógeno, que induz o comportamento de estro. A ovulação geralmente ocorre 24 a 48 horas antes do final da receptividade sexual (LAGE, 2007; PORTO, 2007).

O proestro é o período em que ocorre a maturação de um ou mais folículos, sob a influência do FSH. O folículo começa a secretar estrógeno, que influencia os órgãos genitais. Os níveis crescentes de estrógenos suprimem níveis de progesterona em declínio. Essa fase de maturação folicular na égua, dura de dois a seis dias. A atividade ovariana e o crescimento folicular ocorrem em resposta ao aumento da duração da luz do dia (GOMES, 2003).

O estro é o momento em que ocorre a ovulação e no qual a égua está receptiva sexualmente. Os folículos secretam grande quantidade de estrógenos (E2), responsáveis pelo surgimento do cio, essa elevada secreção de estrógenos pelos folículos pré-ovulatórios, é responsável pela estimulação do crescimento uterino, através da interação do hormônio (E2) com receptores e aumento de processos sintéticos celulares. Nas éguas, o cio tem duração de cinco a sete dias, a ovulação se dá geralmente no terço final do cio (SAMPER, 2008). Este período é marcado pela receptividade sexual bem característica, mas em algumas éguas, só é perceptível por acompanhamento folicular, através de exame ultrassonográfico, uma vez que as manifestações psíquicas não são demonstradas (cio silencioso).

O metaestro é um estágio de transição no qual o estrógeno em declínio é contrabalanceado pela P4 em elevação. Após a ovulação ocorre formação de corpo lúteo, que se desenvolve em três ou quatro dias formando uma glândula hormonal. No caso de fecundação e desenvolvimento do embrião, o corpo lúteo é mantido por período mais longo. Quando não ocorre a fecundação, ele atrofia (LAGE, 2007).

O diestro é o período de secreção da P4 pelo corpo lúteo, a fertilização dos ovócitos e a subsequente gestação resultam no prolongamento do diestro. A duração do diestro varia entre as espécies, nos equinos dura, em média, cinco a seis dias (SAMPER, 2008).

O pró-estro é uma fase de transição do diestro para o estro subsequente na égua não fertilizada e é marcado por uma diminuição da ação do corpo lúteo e um recrutamento folicular induzido pelo FSH.

O anestro verdadeiro é o período de inatividade ovariana sem ovulação, com baixos níveis séricos de P4, perda do tônus uterino e atrofia gonadal. Ocorre como resultado de uma redução na concentração de GnRH e LH no hipotálamo e na pituitária anterior, respectivamente. A ausência de atividade reprodutiva durante o anestro é causada provavelmente pela supressão da secreção de GnRH induzida por uma série de sistemas neuronais inibitórios que fazem a transmissão de fatores externos e internos como fotoperíodo, nutrição, temperatura e ritmo endógeno ciclo anual (BISOL, 2007).

2.4 Microrganismos colonizadores do trato reprodutivo

O útero da égua é mantido livre de contaminantes através de mecanismos físicos, imunológicos e de um sistema linfático funcional. As barreiras físicas que impedem o acesso de microrganismos ao útero são: a vulva, a prega vestibulo-vaginal e a cérvix (LeBLANC, 1995). Na espécie equina, independentemente do método de cobertura, o sêmen é depositado na luz uterina, sendo, assim as barreiras físicas ultrapassadas, onde todo o material aí depositado induzirá uma resposta inflamatória aguda (TROEDSSON, 1997).

Muitas bactérias da flora vaginal normal podem ser deslocadas para o interior do útero, podendo ser esta a causa principal de endometrites em éguas doadoras de embriões (CHAVES, 2011). Aproximadamente 70-80% das bactérias aeróbicas associadas a endometrites bacterianas na égua são o *S. zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ou *Klebsiella pneumoniae*. Estes microrganismos são descritos como causa primária de endometrite equina desde 1949 (NEELY et al., 1983).

Cultivando espécimes de matadouro, SCOTT et al., 1971 demonstraram que o trato genital da égua pode alojar bactérias sem que ocorram mudanças patológicas. Na Central Ken'tucky Disease Laboratory foram realizadas 934 culturas genitais e isolados bacterianos observando-se assim 43% *Streptococcus hemoliticus* (90% *S. zooepidemicus*, 10% *S. equisimilis*), 18,9% *Escherichia coli*, 9,1% *Pseudomonas* e 4,3% *Klebsiella pneumoniae*, comumente associado com endometrite. Frequentemente suspeito como contaminantes, *Streptococcus hemolíticos* 5,9%, *Staphylococcus* sp. 5,3%, *Enterobacter* sp. 5,0%, *Acinobacter* sp. 3,1%, *Proteus* sp. 0,9%, *Citrobacter* sp. 1,2%, *Actinobacillus equuli* 1,3%, *Salmonella enteritidis* 0,6% e 1,5% de outros (HS Conboy, 1978).

2.5 Mecanismos de defesa uterina na égua

As éguas podem apresentar inflamação uterina pós-cobertura, pós-inseminação, pós-parto, ou após manipulação intrauterina. Éguas saudáveis eliminam as bactérias e os restos da inflamação rapidamente. Algumas éguas, no entanto, não são capazes de fazê-lo. O útero dispõe de mecanismos de defesa, físico e celular, para promover uma rápida eliminação dos agentes causadores da inflamação. Os defeitos de períneo interferem na primeira e mais externa barreira física do ambiente uterino e o meio exterior (LeBLANC, 1995). Aderências e lacerações de cérvix dificultam a limpeza mecânica do útero no período do estro, podendo causar acúmulo excessivo de líquidos durante o diestro e impedindo o fechamento adequado da cérvix, o que impede a manutenção da prenhez (CAMOZZATO, 2019).

A contratilidade do miométrio é, por sua vez, um mecanismo importante para eliminação rápida de agentes agressores e de substâncias inflamatórias, assim sendo imprescindível para a limpeza física da luz uterina (EVANS et al., 1987). As contrações do miométrio facilitam e otimizam a drenagem linfática comprimindo os vasos e movendo os fluidos em direção aos linfonodos (GUYTON, 1991). A demora na limpeza de subprodutos da inflamação permite a aderências das bactérias no endométrio (LeBLANC et al., 1994).

A resposta imune local do útero produz anticorpos para auxiliar no combate aos agentes infecciosos, sendo a imunoglobulina A predominante na secreção uterina das éguas, impedindo aderências de bactérias às células da mucosa do trato genital (NEELY et al., 1983).

O sistema complemento é um mediador de reações biológicas, que servem de defesa uterina contra agentes externos e provoca aumento da permeabilidade vascular, quimiotaxia, opsonização para fagocitose, ativação de lipases de membrana e lise do organismo alvo (Troedsson et al., 2008).

A resposta celular é representado principalmente pelos neutrófilos, que são as primeiras células atraídas pelos mediadores inflamatórios, responsáveis pela fagocitose dos antígenos (Galindo et al., 2003).

2.6 Dinâmicas Foliculares

O ciclo estral é caracterizado por ondas de crescimento folicular ovariano. Na égua existem dois padrões típicos para este evento: onda folicular maior, que possui folículos dominantes e normalmente se inicia na metade final do ciclo estral e termina com a subsequente ovulação; onda folicular menor, onde o maior folículo não atinge o diâmetro necessário para promover a divergência entre os futuros folículos subordinados, que se inicia entre o final do ciclo estral e o início do diestro. As ondas que emergem na metade final do ciclo estral e culminam com a ovulação são classificadas como ondas foliculares primárias, e as ondas que surgem entre o final do ciclo e início do diestro, são denominadas secundárias (GASTAL, 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.5 Local do experimento e animais utilizados

O experimento foi realizado no Setor de Grandes Animais e no Laboratório de Medicina Veterinária preventiva do Hospital Veterinário do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus II, Areia – PB, de acordo com os procedimentos aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPB (nº9838260719).

Utilizou-se quatro éguas mestiças, com idades entre 3 e 12 anos, pertencentes a criatórios localizados no estado de Pernambuco e foram cedidos para o experimento. A pré-seleção dos animais foi feita considerando aspectos como, maturidade sexual, saúde geral reprodutiva, escore corporal, histórico reprodutivo e conformação perineal.

Figura 1: Animais utilizados na avaliação da dinâmica folicular e microbiota vaginal de acordo com a fase do ciclo estral.



Fonte: Arquivo pessoal

3.6 Metodologia

Foram realizados exames ultrassonográficos do útero e ovários. Nos ovários, os folículos foram identificados, contados e mensurados, como meio de acompanhamento da sua dinâmica de crescimento. Após a primeira avaliação, foi identificada a fase do ciclo na qual o animal se encontrou, em seguida, foram realizadas avaliações em dias alternados até ser identificada uma ovulação. Também foram avaliados, o edema uterino, que foi classificado, de acordo com a intensidade, em graus de 0 a 5, onde zero representava o útero na fase de diestro (sem edema); 1 = leve edema; 2 = moderado; 3 = marcante em todo o útero; 4 = máximo, às vezes pequena quantidade de líquido no lúmen uterino e edema marcante no corpo do útero; 5

= anormal, indicando ovulação iminente (SAMPER, 1997). As avaliações seguiram, até a ovulação subsequente, de modo a alcançar um ciclo reprodutivo completo.

A primeira avaliação foi realizada como forma de triagem, com intuito de observar se as éguas estavam ciclando. O aparelho utilizado foi Mindray DP-4900 vet equipado com um transdutor linear transretal e uma frequência de cinco mega-hertz (**Figura 2**).

Figura 2: Aparelho de ultrassom Mindray DP-4900 vet



Fonte: Arquivo pessoal

3.3 Coleta de amostras e cultura microbiológica

Associado ao exame ultrassonográfico que distinguiu cada fase do ciclo, foi realizada coleta de material biológico da vagina, utilizando um swab estéril, de cada égua em fases diferentes (**Figura 4**), sendo a primeira coleta no metaestro, no dia 4 após a ovulação, a segunda foi feita no diestro, dia 10, no dia 16 do pró-estro a terceira coleta e quando foram identificados sinais de cio associado aos achados imaginológicos do estro foi feita a quarta coleta de material biológico. Em seguida, a referida amostra foi acondicionada em meio de transporte Stuart e encaminhada para o Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva do Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba para ser analisada.

Figura 3: Representação das fases do ciclo estral bem como os dias de coleta de material biológico nas mesmas.

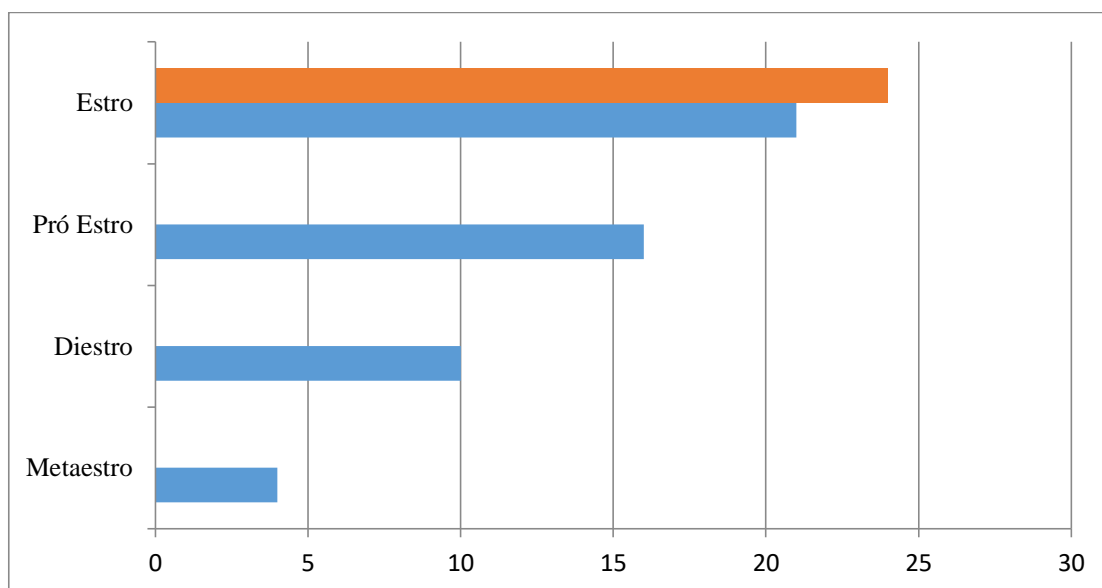
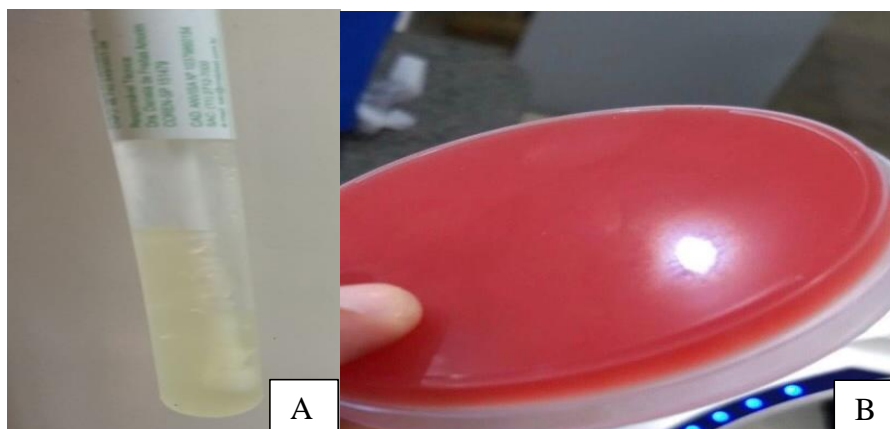


Figura 4: Swab estéril em meio de transporte Stuart (A), placa de Petri com meio Ágar sangue (B)



Fonte: Arquivo pessoal

Cada amostra de material coletado foi cultivado, em Ágar sangue de equino desfibrinado a 5%, por estria de esgotamento com intuito de favorecer um crescimento de colônias mais isoladas, foi incubado em estufa a 37°C, e leitura foi realizada em 24, 48 e 72 horas. Para a identificação das bactérias nas amostras foi realizada coloração de Gram, teste de catalase e de oxidase e observações microscópicas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No exame dos ovários foram quantificados os folículos em cada ovário e identificado o folículo de maior diâmetro, que foi identificado como sendo o folículo dominante. Foram mensurados os diâmetros do folículo dominante e do maior folículo subordinado, bem como o ovário onde estava localizado cada folículo. Esses resultados estão descritos na (Tabela 1).

Tabela 1: Diâmetro (mm) do folículo dominante e segundo maior folículo nos ovários esquerdo e direito de éguas.

Avaliações	Égua 1		Égua 2		Égua 3		Égua 4	
	OD	OE	OD	OE	OD	OE	OD	OE
1	15,8	17,6	21,8	32	19,9	16,7	12	11,6
2	14,3	15,3	28,4	36	30,9	-	13,9	7,5
3	17,1	-	32	38,6	44,2	15,2	-	15,9
4	14,9	34,3	32,2	-	-	13,3	17,1	-
5	20,1	38,2	33,9	17,3	-	-	20,1	18,4
6	20,8	-	23,4	-	-	-	25	20
7	8,2	-	-	13,2				
8	15,2	28,1	21,6	-				
9	17,8	22,3	22,7	12				
10	21,6	15,2	28,8	12,3				
11	22,3	22,7	-	15,5				
12	20,6	20,7	28,6	24,6				
13	21	-	25,6	-				
14	16,5	-						
15	28,5	20,5						
16	31	18,3						
17	25,6	21,9						
18	25,2	30,4						
19	36	-			37,4			

Pode-se observar, segundo os resultados apresentados na Tabela 1, que a égua 1 apresentou duas ondas foliculares, com o folículo dominante localizado inicialmente no ovário esquerdo, medindo 34,3 mm de diâmetro. Esse folículo atingiu o diâmetro de 38,2 mm de diâmetro na avaliação 5, quando houve a primeira ovulação. Outra onda ovulatória iniciou-se, na oitava avaliação, com um folículo medindo 15,2 mm de diâmetro no ovário direito, e 21,6 no ovário esquerdo onde o mesmo folículo atingiu o diâmetro máximo de 36 mm na avaliação 19, vindo a ovular posteriormente.

Ainda de acordo com o exposto na tabela 1, o animal 2 apresentou um folículo dominante no ovário esquerdo, inicialmente medindo 32 mm de diâmetro, folículo esse que chegou a ovular após atingir 38,6 mm, visualizado na terceira avaliação, resultando na atresia

dos demais folículos. Na mesma égua, o ovário direito apresentou uma nova onda folicular detectada na oitava avaliação com um folículo medindo 21,6 mm. Ao final da 10ª avaliação observou-se o crescimento de um novo folículo dominante com 28,8 mm de diâmetro no ovário esquerdo, indicando a presença de 2 ondas foliculares nessa égua.

Por sua vez, a égua 3 apresentou o folículo dominante pré ovulatório medindo 30,9 mm de media, já na segunda avaliação no ovário direito. A ovulação ocorreu quando o mesmo atingiu o diâmetro de 44,2 mm, observado na terceira avaliação. Após a ovulação detectada, as avaliações que se seguiram foram sempre marcadas por muitas dificuldades na confecção das imagens. Foi necessário repetidas vezes, fazer uso de sedação para que o animal permitisse a realização do exame, de modo que, só foi possível a coleta dos swabs nas diferentes fases do ciclo estral. Assim, com a proximidade do fim do ciclo, a mesma iniciou os sinais de estro e foi possível a realização de avaliação ultrassonográfica do útero e ovários, permitindo, nesta ocasião, a visualização de um novo folículo dominante no ovário direito, sendo que o mesmo ovulou medindo 37,4 mm de diâmetro, exatamente aos 21 dias da última ovulação.

A égua 4 havia ovulado quando do início das avaliações, no entanto, e de modo semelhantemente à égua 3, suas avaliações também foram difíceis de ser realizadas no transcorrer do experimento, em função do seu temperamento inquieto e devido ao tamanho reduzido dos ovários que dificultava a sua localização. Além disso, o referido animal adoeceu posteriormente, tendo sido, portando, necessário suspender as avaliações.

As éguas podem apresentar uma ou duas ondas foliculares, havendo uma maior predisposição a uma única onda. A onda folicular maior divide-se em onda primária e onda secundária. A onda folicular primária inicia-se na metade do diestro e dá origem ao folículo ovulatório (>35mm). A onda secundária emerge no início do estro e usualmente resulta na formação de grandes folículos anovulatórios (>20 mm) (GINTHER, 1989), conforme visto nas avaliações do presente estudo.

Em outro estudo realizado por Ginther et al. (2003) demonstrou-se que os maiores folículos das ondas menores alcançam diâmetro de 22,8 mm aproximadamente, mas, depois disso, param de crescer, semelhante aos dados encontrados aqui. Esses resultados, refletem a necessidade crítica de estímulo hormonal, mais especificamente do LH nessa fase de crescimento. Na ausência desse estímulo, em função da presença da progesterona do diestro ou da insuficiência de receptores, ocorre a atresia folicular.

Figura 5: Folículo pré ovulatório 36,4mm (A); Três folículos e um CL(B).

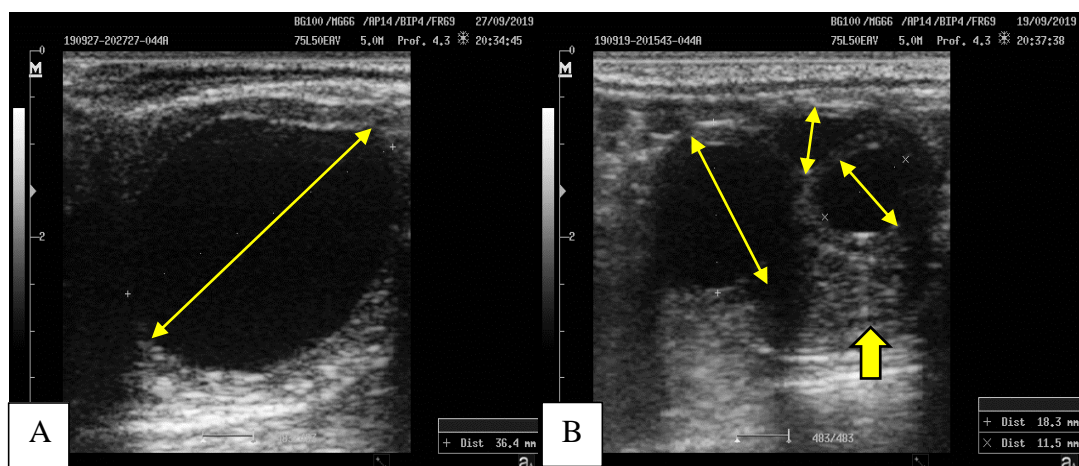
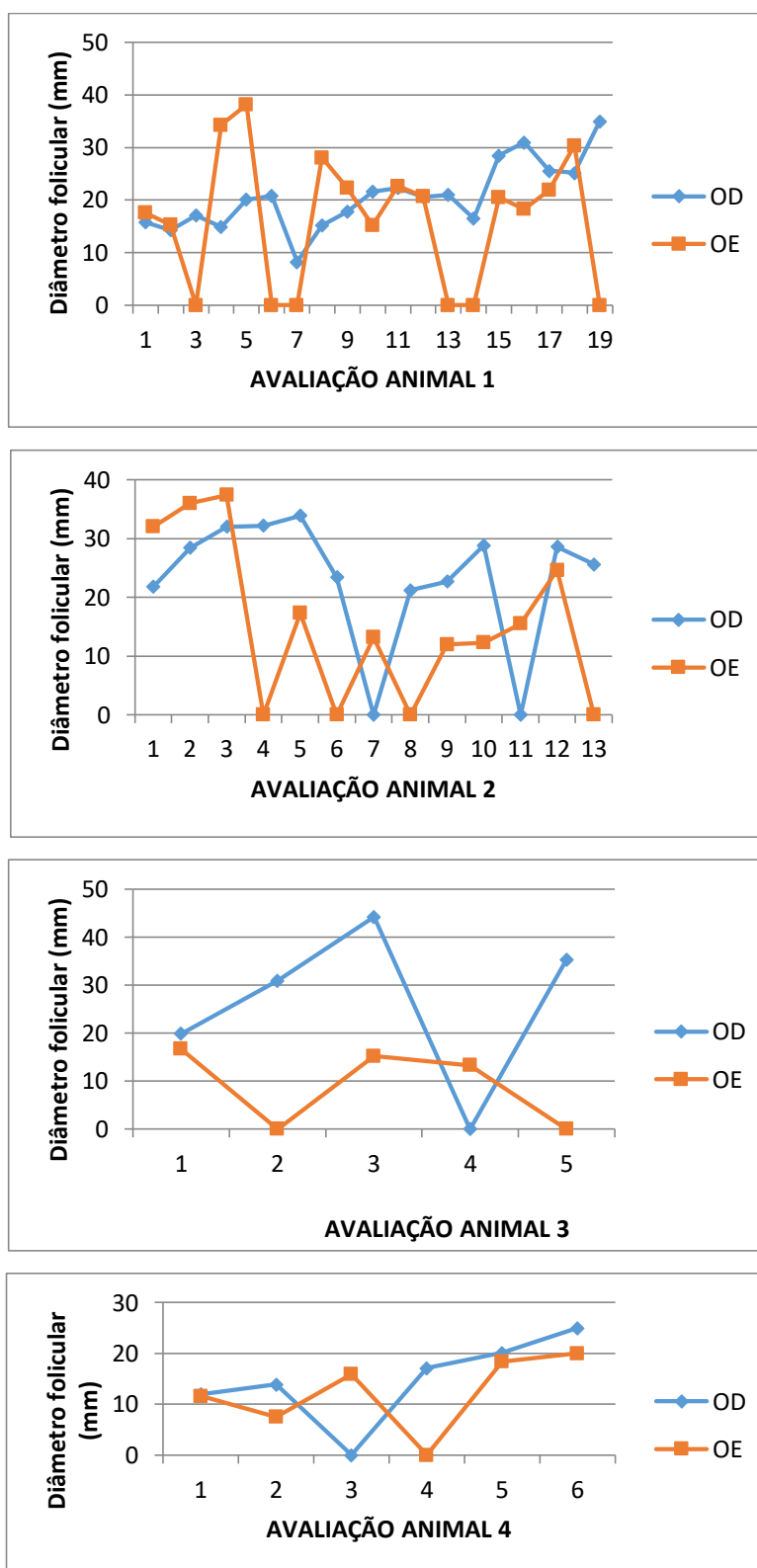


Figura 6: Diâmetro (mm) do folículo dominante e segundo maior folículo nas éguas 1, 2, 3 e 4, respectivamente.



Ainda, no que se refere ao diâmetro dos folículos ovulatórios encontrados neste estudo, que foram 38,2 e 36 mm na égua 1; 38,6, na égua 2 e 44,2 e 37,4 mm na égua 3 com uma média

de 38,08 mm de diâmetro, esses resultados são inferiores aos encontrados por Bottino et al, (2017), que avaliando a dinâmica ovulatória em éguas da raça Manga Larga Marchador encontraram o folículo ovulatório com uma média de 43,91 mm de diâmetro, o que pode ser explicado pelo baixo escore corporal das éguas quando do início do experimento. Foi possível visualizar o corpo hemorrágico no dia seguinte à primeira ovulação, bem o corpo lúteo (CL) durante o diestro, por meio da ultrassonografia (**Tabela 2**).

Tabela 2- Quantidade de folículos e presença de corpo lúteo nos ovários esquerdo (OE) e direito (OD) de éguas.

Avaliações	Égua 1		Égua 2		Égua 3	
	OD	OE	OD	OE	OD	OE
1	03	02	01	02	03	03
2	04	03	01	01	03	03
3	03	03	03	03	01	03
4	03	03	02	CL	01	03
5	03	01	01	CL	02	CL
6	02	CL	01	CL	02	CL
7	02	CL	02	CL	03	CL
8	02	CL	02	CL	01	-
9	02	CL	03	01		
10	02	CL	03	02		
11	04	04	02	03		
12	03	02	03	03		
13	03	03	01	CL		

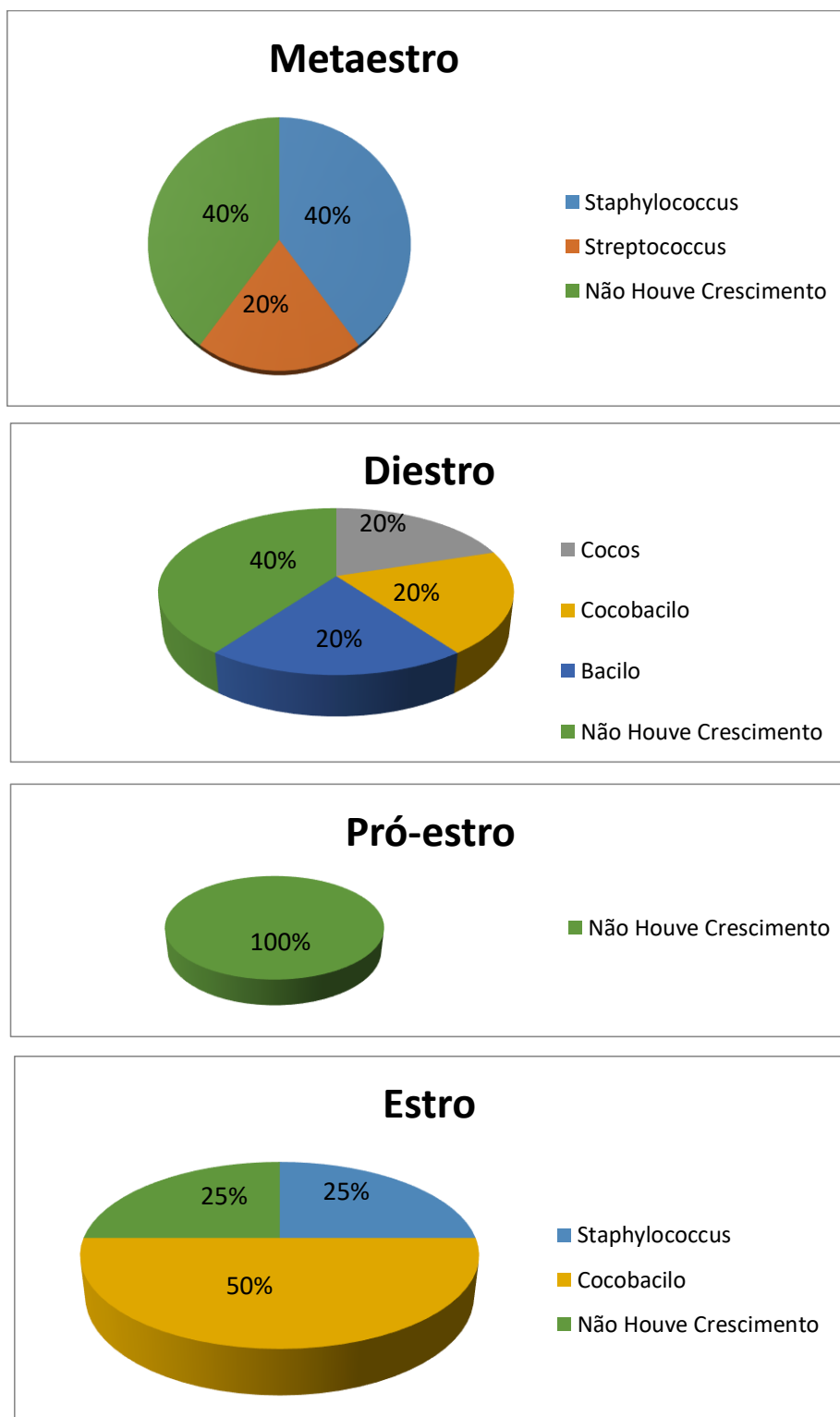
De acordo com os resultados apresentados na tabela 2, observou-se que a presença do CL nos respectivos ovários dos animais avaliados são compatíveis com os respectivos folículos dominantes nos ovários dessas fêmeas, o que evidencia a ovulação.

Após a lise do CL observou-se o desenvolvimento de uma nova onda folicular com presença de um novo folículo dominante, além de um aumento do edema uterino, à medida que esse folículo evoluía para folículo pré ovulatório e um estro subsequente, assim fechando o período de avaliação imaginológica dos ovários e útero.

Foram analisados 14 swabs vaginais para análise microbiológica, no entanto, nem todos apresentaram crescimento de microorganismos.

Os resultados referentes aos microorganismos presentes na vagina de éguas em diferentes fases do ciclo estral obtidos no presente estudo (**Figura 6**).

Figura 7: Prevalência de microrganismos na vagina de éguas nas diferentes fases do ciclo estral.



Observa-se que no metaestro houve crescimento bacteriano de *Staphylococcus* e *Streptococcus* e, em dois animais não ocorreu crescimento. Na fase de diestro cresceu *Cocos*, *cocobacilo* e *Bacilo* e em dois indivíduos não ocorreu crescimento. No Pró estro não foi observado crescimento bacteriano. No estro observou-se crescimento de *staphylococcus* e *cocobacilo*, nessa fase também observou-se que em um indivíduo cresceu microrganismos diferentes das fases anteriores que apresentaram crescimento.

Troedsson e Liu (1992) relataram que as éguas são mais susceptíveis a endometrite durante a fase progesterônica do que sobre influência do estrógeno, uma vez que na fase estrogênica, este hormônio, aumentando a imunidade, o que pode explicar o não crescimento de microrganismos na fase de proestro, quando os níveis de estrógeno estão mais elevados.

Escherichia coli é a bactéria mais frequentemente associada com problemas de fertilidade em éguas e o *Streptococcus beta hemolítico* o segundo mais frequente. As endometrites causadas por *E.coli* não apresentam sinais clínicos, estando mais associado com repetidos cios. Já infecções do endométrio causadas por *Streptococcus beta hemolítico* apresentam vários sinais clínicos (CHAVES, 2011).

Tabela 3: Relação entre as fases do ciclo estral e incidência bacteriana vaginal

Avaliação	Égua 1	Égua 2	Égua 3	Égua 4
Metaestro	<i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i>	Crescimento negativo	Crescimento negativo	<i>Staphylococcus</i>
Diestro	<i>Bacilos</i>	<i>Cocobacilo</i> <i>Bacilos</i>	Crescimento negativo	Crescimento negativo
Pró estro	-	-	-	-
Estro	<i>Staphylococcus</i> <i>Cocobacilos</i>	<i>Cocobacilos</i>	Crescimento negativo	-

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e de acordo com as condições deste estudo pode-se concluir que: Para todas as éguas foi observada a ocorrência de uma onda folicular maior por ciclo e uma onda folicular menor por ciclo. A quantidade de folículos de cada onda folicular variou de acordo com os animais avaliados.

Foram encontradas bactérias com potencial patogênico na vagina de fêmeas em atividade reprodutiva, mesmo quando essas estiveram saudáveis. Os tipos de microorganismos encontrados na vagina das éguas avaliadas foram semelhantes nas diferentes fases do ciclo estral, com exceção da fase de proestro, quando não houve crescimento bacteriano identificado.

Mais estudos com um número maior de fêmeas devem ser desenvolvidos a fim de aprofundar os conhecimentos acerca da contaminação com esses microorganismos e quais suas consequências na saúde reprodutiva da fêmea;

6 REFERÊNCIAS

BOTTINO, M.P; Lemos, A. S.; Dias, B. O.; Godtfredsen, S. M.; Sales, J. N. S.; Albuquerque, F. T. Efeito do escore de condição corporal na dinâmica folicular final e fertilidade de éguas da raça Mangalarga Marchador. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, 2018. Periódicos.pucpr.br

CASTRO CHAVES, M.M.B. **Estudo da microbiota vaginal de éguas com ênfase na pesquisa de Lactobacilos**. Botucatu, 2011. 45p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

CHAVES, M.B.C. Estudo da microbiota vaginal de éguas com ênfase na pesquisa de lactobacilos. 2011. 68 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu.

EVANS MJ, IRVINE CHG. Serum concentrations of FSH, LH and progesterone during the oestrous cycle and early pregnancy in the mare. **J Reprod Fertil Suppl**, v.23, p.193–200, 1975.

FERREIRA, A. I. T. Reprodução equina. 2009. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Porto, Porto, 2009.

GALINDO, A.S.D.; KUNZ, T.L.; GAMBARINI, M.L.; OLIVEIRA, B.D. Mecanismos de defesa uterinos na fêmea bovina. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v.9, n.30, p.49-58, 2003.

GASTAL, E.L., GASTAL, M.O., NOGUEIRA, G.P., COSTA, E.S. Influência do LH na seleção e no crescimento do futuro folículo dominante em éguas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.25, n.2, p.155-157, 2001.

GINTHER, O.J. Folliculogenesis during the transitional period and early ovulatory season in mares. **Journal Reproduction Fertility**, v.90, p.311-320, 1989.

GINTHER, O.J; WOODS; B.G, MEIRA, C; BEG, M.A; BERGFELT, D.R. Hormonal mechanism of follicle deviation as indicated by major versus minor follicular waves during the transition into the anovulatory season in mares. **Reproduction**, v.126, p.653-660, 2003.

LEBLANC, M. M.; JOHNSON, R. D.; CALDERWOOD, M. B.; VALDERRAMA, C. **Lymphatic clearance of India ink in reproductively normal mares and mares susceptibles to endometritis.** Biol reprod mono, n. 1, p. 501-506, 1995.

NEELY DP, LIU LK: HILLMAN, R. B. **In Equine Reproduction**, Hughs, J. P. (Ed.) Vet Learning Systems Co nc. 1983.

SAMPER, J.C. Ultrasonographic appearance and the use of uterine edema to time ovulation in mares. In: Proceedings of the 43rd Ann. Conv. Amer. Assoc. Equine Pract., p. 41–43, 1997.

SCOTT P, DALEY P, BAIRD GG, STURGESS S, FROST AJ: **The aerobic bacterial flora of the reproductive tract of the mare.** Vet Rec. 88:58-61,1971.

TROEDSSON, M. H. T. **Therapeutic considerations for mating-induced endometritis.** Pferdeheilkund, v. 13, p. 516-520, 1997.

TROEDSSON, M. H. T.; LIU, I. K. M. Measurement of total volume and protein concentration of intrauterine secretion after intrauterine inoculation of bacteria in mares that were either resistant or susceptible to chronic uterine infection. **American journal of veterinary researchs**, v. 53, p. 1641-1644, 1992.

TROEDSSON, M.H.T.; DESVOUSGES, A.; MACPHERSON, M.L.; POZOR, M.P. **Persistent breeding-induced endometritis.** Pferdeheilkunde, v.24, p.56-60,2008.